

НЕКОТОРЫЕ ФАКТЫ, ОБЪЯСНЯЮЩИЕ
ГОСТАЛЬНУЮ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ГЕЛЬМИНТОВ

Р. Г. Заяц

Кафедра биологии Минского медицинского института

Проведено сравнительное изучение белкового состава экстрактов из личинок *Trichinella spiralis*, половозрелых *Ascaris suum* и *Ascaridia galli* и сывороток крови их возможных хозяев методом электрофореза в полиакриламидном геле. Установлено, что наибольшее сходство в белковом составе имеется у гельминта и его облигатного хозяина. Обсуждаются некоторые предположения об особенностях эволюции моно- и полигостальных гельминтов.

Проблема специфичности гельминтов по отношению к своим хозяевам является одной из центральных в современной гельминтологии. Изучением ее занимались многие исследователи (Dineen, 1963; Smyth, 1968; Ямасита, 1968; Геллер, 1972; 1973; Гагарин, 1973; Prost, 1973, и др.), однако и до настоящего времени причины гостальной специфичности гельминтов не могут считаться выясненными. Так, Смит (1968) и Ямасита (1968) считают, что специфичность эхинококка по отношению к своим хозяевам определяется анатомическими, биохимическими и физиологическими факторами. Прост (1973) объясняет гостальную специфичность паразита корреляцией метаболических процессов паразита и хозяина. Однако конкретных данных, показывающих причины гостальной специфичности, в литературе очень мало.

Было учтено вышеизложенное и многочисленные исследования, показывающие общность антигенной структуры гельминтов и их хозяев (Dineen, 1963; Tanner, 1965; Williams, Soulsby, 1970; Лейкина, 1970, и др.), и проведено сравнительное исследование белковой структуры личинок *Trichinella spiralis* Owen, 1835 (как представителя типичных полигостальных гельминтов), *Ascaris suum* Goere, 1782 (как представителя моногостальных гельминтов) и *Ascaridia galli* Schrank, 1788 (последняя занимает промежуточное положение, так как она имеет более широкий круг хозяев, чем *A. suum*, но значительно меньший, чем *T. spiralis*) и сывороток крови их возможных хозяев.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для исследования белковых спектров был использован метод диск-электрофореза в полиакриламидном геле по Девис (Davis, 1964).

Личинок трихинелл лабораторного штамма, в течение 10 лет пассивированных на крысах, получали путем переваривания тушек крыс в искусственном желудочном соке через 40—60 дней после заражения. Личинок трихинелл половозрелых аскарид свиньи и аскаридий кур многократно отмывали стерильным физиологическим раствором и получали экстракты по методу Кузовлевой (1960). Количество белка в экстрактах определяли по методу Лоури. Электрофорез проводили в несколько модифицированном приборе Венгерской фирмы «Реанал». Использовали трубочки размером 5×80 мм. Сила тока 4 мА на каждую трубочку, продолжительность

электрофореза около 1.5 ч. Электрофореграммы окрашивали амидовым черным 10В. Документация опытов велась путем фотографирования электрофореграмм в проходящем свете с использованием методики, описанной ранее (Заяц, 1966). При сравнении электрофореграмм учитывали электрофоретическую подвижность фракций, их ширину и интенсивность окрашивания. Каждый опыт повторяли 10 раз. Цифровые данные обработаны методом вариационной статистики по Бейли (1962).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В экстрактах из личинок трихинелл получено 15.0 ± 0.26 , из аскарид — 23.6 ± 0.21 , а из аскаридий — 19.8 ± 0.29 белковых фракций, четко различающихся по электрофоретической подвижности. В сыворотке крови крыс обнаружено 20.2 ± 0.15 , свиней — 18.8 ± 0.21 , цыплят — 17.8 ± 0.15 , морских свинок — 16.7 ± 0.21 , мышей — 14.8 ± 0.15 , человека — 20.1 ± 0.18 белковых фракций, отличающихся своей электрофоретической подвижностью (см. таблицу).

Количество общих по электрофоретической подвижности белковых фракций в экстрактах из *Trichinella spiralis*, *Ascaris suum*, *Ascaridia galli* и сыворотке крови хозяев

	Экстракты нематод			Всего фракций в сыворотках крови
	трихинеллы	аскариды свиньи	аскаридии кур	
Сыворотка крови:				
крысы	13.9 ± 0.31	11.7 ± 0.15	9.9 ± 0.28	20.2 ± 0.15
свиньи	9.7 ± 0.20	14.8 ± 0.21	9.3 ± 0.26	18.8 ± 0.21
цыплят	7.7 ± 0.20	8.0 ± 0.26	13.5 ± 0.23	17.8 ± 0.15
морских свинок	10.0 ± 0.30	8.9 ± 0.23	8.9 ± 0.18	16.7 ± 0.21
мышей	9.9 ± 0.28	7.0 ± 0.21	7.0 ± 0.21	14.8 ± 0.15
человека	9.9 ± 0.23	11.2 ± 0.21	9.0 ± 0.26	20.1 ± 0.18
Всего фракций в экстрактах нематод	15.0 ± 0.26	23.6 ± 0.21	19.8 ± 0.29	—

Примечание. Везде $n = 10$.

При сравнении электрофоретической подвижности белковых фракций из личинок трихинелл и сывороток крови вышеперечисленных хозяев наибольшее количество общих по этому признаку фракций выявлено у личинок трихинелл и в сыворотке крови крыс — 13.9 ± 0.31 ; 9.7 ± 0.20 общих фракций имеется у личинок трихинелл и в сыворотке крови свиньи; 7.7 ± 0.20 — у личинок трихинелл и в сыворотке крови цыплят; 10.0 ± 0.30 — у личинок трихинелл и в сыворотке крови морских свинок; 9.9 ± 0.28 — у личинок трихинелл и в сыворотке крови мышей и 9.9 ± 0.23 — у личинок трихинелл и в сыворотке крови человека.

При сравнении электрофоретической подвижности белков экстрактов из аскариды и сыворотки крови свиней обнаружено 14.8 ± 0.21 общих белковых фракций; 11.7 ± 0.15 общих фракций имеется у аскариды и в сыворотке крови крыс; 8.0 ± 0.26 — у аскариды и в сыворотке крови цыплят; 8.9 ± 0.23 — у аскариды и в сыворотке крови морских свинок; 7.0 ± 0.21 — у аскариды и в сыворотке крови мышей; 11.2 ± 0.21 — у аскариды свиньи и в сыворотке крови людей.

При сравнении электрофоретической подвижности белков экстрактов из аскаридий кур и белков сыворотки крови цыплят обнаружено 13.5 ± 0.23 общих по этому признаку компонентов; 9.9 ± 0.28 общих белковых фракций имеется у аскаридий и в сыворотке крови крыс; 9.3 ± 0.26 — у аскаридий и в сыворотке крови свиней; 8.9 ± 0.18 — у аскаридий и в сыворотке крови морских свинок; 7.0 ± 0.21 — у аскаридий и в сыворотке крови мышей и 9.0 ± 0.26 — у аскаридий и в сыворотке крови людей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Следует обратить внимание на то, что наибольшее количество общих по электрофоретической подвижности фракций имеется у трихинеллы и в сыворотке крови крыс (13.9 ± 0.31 , что составляет 68.8% от всего числа фракций, обнаруженных в сыворотке крови крыс), у аскариды и в сыворотке крови свиньи (14.8 ± 0.21 , что составляет 79.1% от общего количества фракций, обнаруженных в сыворотке крови свиньи), у аскаридий и в сыворотке крови кур (13.5 ± 0.23 , что составляет 75.8% от общего числа фракций, обнаруженных в сыворотке крови цыплят).

При сравнении электрофоретической подвижности белковых фракций личинок трихинелл и сывороток крови других животных и человека наблюдается от 7.7 ± 0.20 до 10.0 ± 0.30 общих белковых фракций, что достоверно ниже, чем у личинок трихинелл и в сыворотке крови крыс (везде $p < 0.001$).

При сравнении электрофоретической подвижности белковых фракций аскариды и сывороток крови других животных и человека наблюдается от 7.0 ± 0.21 до 11.7 ± 0.15 общих фракций, что достоверно ниже, чем у аскариды и в сыворотке крови свиней (везде $p < 0.001$).

При сравнении электрофоретической подвижности белковых фракций аскаридий и сывороток крови других животных и человека наблюдается от 7.0 ± 0.21 до 9.9 ± 0.28 общих фракций, что достоверно ниже, чем у аскаридий и в сыворотке крови цыплят (везде $p < 0.001$).

Таким образом, наибольшее сходство в белковом спектре имеется у гельминта и его облигатного хозяина.

Биохимические особенности организма являются составной частью фенотипа. Белки представляют собой фенотипы первого порядка, сравнительное исследование которых позволяет косвенно судить о генотипах (Клименко, 1971). В настоящее время хорошо известно, что конфигурация молекул белка (его вторичная и третичная структура) определяется первичной структурой, т. е. порядком расположения аминокислот, который детерминируется порядком нуклеотидов в молекуле ДНК (гене).

Так как метод диск-электрофореза в полиакриламидном геле позволяет разделять смесь белков не только по электрическому заряду молекул, но и по их величине (молекулярному весу) и по форме (третичной структуре) (Маурер, 1971), то по различиям в белковом спектре можно косвенно судить и о различиях в соответствующих генотипах.

В экстрактах из личинок трихинелл получено 15.0 ± 0.26 белковых фракций, что достоверно меньше, чем в экстрактах из аскаридий (19.8 ± 0.29 , $p < 0.001$) и аскарид (23.6 ± 0.21 , $p < 0.001$). Исходя из наших экспериментальных данных, можно отметить, что у типичного полигостального гельминта (трихинелла) наблюдается значительное уменьшение разнообразия белков по сравнению с моногостальным гельминтом (аскарида) и с гельминтом, имеющим небольшой круг хозяев (аскаридия). Последний гельминт имеет достоверно меньше белковых фракций, чем типичный моногостальный гельминт (аскарида $p < 0.001$), но достоверно больше, чем типичный полигостальный (трихинелла, $p < 0.001$).

Использованный нами штамм трихинелл был выделен от домашней свиньи в Белоруссии 10 лет назад и все это время пассивировался на крысах. Трихинеллы адаптировались к паразитированию у крыс и имеют с ними 13.9 ± 0.31 общих по электрофоретической подвижности фракций, в то время как в сыворотке крови домашней свиньи имеется только 9.7 ± 0.20 общих белковых фракций. Разница статистически высоко достоверна ($p < 0.001$).

Вероятно, в связи с весьма широким кругом хозяев у трихинелл в процессе эволюции выработалась способность обходиться минимальным набором белков, необходимых для нормальной жизнедеятельности. В связи с относительно малым разнообразием белков трихинеллы в меньшей степени, чем моногостальные гельминты, подвергаются воздействию иммунной системы не совсем свойственных для них организмов, так как

они всегда будут иметь меньшие белковые отличия от хозяина. Трихинеллы имеют широкую адаптационную пластичность, что, вероятно, связано с особенностями генотипа (Березанцев, 1972, 1974). Геллер (1972, 1973) объясняет полигостальность трихинелл сбалансированным комплексом полимерных генов. Нам представляется реальным следующее предположение: при попадании трихинелл от одного вида млекопитающих к другому появляются новые индукторы, которые, вероятно, дерепрессируют соответствующие гены, согласно регуляторному механизму (Jacob, Monod, 1961), и как следствие начинают синтезироваться белки, сходные по своей структуре с белками нового хозяина.

Несомненно, что в процессе эволюции паразитов и их хозяев происходил естественный отбор белковых компонентов. У моногостальных гельминтов естественный отбор имел, вероятно, характер стабилизирующего (Шмальгаузен, 1968), в процессе которого сужалась норма реакции, постепенно закрепляющаяся генетически. Количество белковых компонентов при этом не имело существенного значения, так как они постепенно сближались с белками хозяина.

Эволюция полигостальных гельминтов шла, вероятно, по несколько иному пути. В связи с тем что паразиты каждой генерации могли попадать в организм нового вида и выживать там, у них расширялась норма реакции, постепенно закрепляющаяся генетически и приведшая в конечном итоге к сбалансированному комплексу полимерных генов. В данном случае количество белковых компонентов уже не было безразлично для организма паразита, так как он часто попадал в нового для себя хозяина и, чем меньше у него было белковых компонентов, тем меньше он отличался от белков нового хозяина, что, возможно, является одним из условий выживания паразита.

Л и т е р а т у р а

- Бейли Н. 1962. Статистические методы в биологии. ИЛ, М.: 1—260.
- Березанцев Ю. А. 1972. Экологические особенности *Trichinella spiralis*. Матер. докл. Всес. конф. по проблеме трихинеллеза человека и животных, Вильнюс: 47—48.
- Березанцев Ю. А. 1974. Трихинеллез. «Медицина», М.: 1—160.
- Гагарин В. Г. 1973. Изменчивость степени гостальной специфичности в результате полиморфности видов паразитов и их хозяев. В кн.: Проблемы общей и прикладной гельминтологии. «Наука», М.: 35—41.
- Геллер Э. Р. 1972. О гостальной специфичности паразитических нематод в свете филогенетического параллелизма эволюции паразита и его хозяина. В кн.: Научные труды Курского гос. пед. инст., 13 (106): 5—13.
- Геллер Э. Р. 1973. Об особенностях экологических адаптаций трихинелл. В кн.: Проблемы общей и прикладной гельминтол. «Наука», М.: 191—196.
- Заяц Р. Г. 1966. Простое приспособление для фоторегистрации линий преципитации в геле агар. Лабор. дело., 6: 378—378.
- Клименко В. В. 1971. Фракционирование белков из *Fasciola hepatica* и *Fasciola gigantica* методом гельфильтрации и электрофореза в полиакриламидном геле. Сб. работ по гельминтологии. «Колос». М.: 157—163.
- Кузовлева О. Б. 1960. Методы выделения и электрофоретического исследования тканевых белков. Методические письма АМН СССР. М.: 1—13.
- Лейкина Е. С. 1970. Антигены гельминтов и их общность с антигенами хозяина (обзор). Мед. паразитол., 39 (3): 349—355.
- Маурер Г. 1971. Диск-электрофорез. «Мир», М.: 1—247.
- Смит Дж. 1968. Исследование эхинококков *in vitro* и изучение специфичности паразита к хозяину. Бюлл. Всемирн. орг. здравоохран., 39 (1): 9—17.
- Шмальгаузен И. И. 1968. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. «Наука», М.: 1—451.
- Ямашита Дж. 1968. Естественная невосприимчивость к эхинококкозу и обуславливающие ее биологические факторы. Бюлл. Всемирн. орг. здравоохран., 39 (1): 121—122.
- Davis B. M. 1964. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2 (121): 404—427.
- Dineen J. K. 1963. Antigenic relationship between host and parasite. Nature, 197 (4865): 471—472.
- Yacob F., Monod J. 1961. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. J. Mol. Biol., 3: 318—321.
- Prost M. 1973. Zjawisko chematoksji i jego rola w powstawaniu specyficzności parazytów względem żywicieli. Wiadom. parazytol., 19 (2): 141—147.

- Tanner C. E. 1965. Identification of a host antigen in extracts of *Trichinella spiralis* larvae. J. Parasitol., 51 (2) : 37—43.
- Williams J. F., Soulsby E. J. 1970. Antigenic analysis of the developmental stages of *Ascaris suum*. II. Host components. Exp. Parasitol., 27 (3) : 362—367.
-

SOME FACTS EXPLAINING THE HOST SPECIFICITY OF HELMINTHS

R. G. Zajats

S U M M A R Y

Extracts from larvae of *Trichinella spiralis*, mature *Ascaridia galli* and *Ascaris suum* and blood sera of their possible hosts (rats, pigs, chicks, guinea pigs, mice and men) were investigated by the method of electrophoresis in polyacrylamid gel. The protein component was found to be most identical in helminth and its obligate host. The host specificity is supposed to depend on the community of the protein content of the parasite and its host. The data on the difference in protein spectra are given and the peculiarities of the evolution of mono- and polyhost helminths are discussed.
